



Artículo Original

Susceptibilidad al lambdacialotrina y patrones de esterasas en poblaciones naturales de *Aedes aegypti* de los distritos de Laredo (La Libertad) y Sullana (Piura)

Susceptibility to lambdacyhalothrin and esterase patterns in natural populations of *Aedes aegypti* in the districts of Laredo (La Libertad) and Sullana (Piura)

Judith Roldán y Juan Guzmán

Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

Se determinó la susceptibilidad al lambdacialotrina de las poblaciones naturales de *Aedes aegypti* con el estado actual de las esterasas. Para ello se utilizaron 480 zancudos hembras de *Ae. aegypti* procedentes de poblaciones naturales de Sullana (Piura) y Laredo (La Libertad) y una cepa de referencia Rockefeller. La susceptibilidad fue determinada mediante el método de la botella propuesto por el CDC, para ello se estableció un grupo control (etanol absoluto) y un grupo problema (lambdacialotrina 10µg/botella) con cuatro repeticiones de 20 zancudos cada uno; las esterasas fueron determinados mediante un SDS – PAGE y sometidas a los sustratos alfa naftil acetato y beta naftil acetato. Se encontró un elevado porcentaje de mortalidad de poblaciones adultas de *Ae. aegypti* del distrito Laredo y Sullana al ser expuestos al insecticida; asimismo se identificaron 14 bandas de esterasas, de las cuales once presentan afinidad por el alfa naftil acetato y tres por el beta naftil acetato; se identificó una esterasa con mayor intensidad de coloración (E6). Por lo tanto, se concluye que las poblaciones hembras de *Ae. aegypti* Laredo y Sullana presentan susceptibilidad a lambdacialotrina y que presentan 13 bandas no comunes (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E10, E11, E13, E14) y una banda común (E12) en relación a la población Rockefeller.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, susceptibilidad, lambdacialotrina, Sullana, Laredo, esterasas.

ABSTRACT

Susceptibility to lamdacyhalothrin in natural populations of *Aedes aegypti* with the current state of the esterase was dtermined. To do this, we used 480 female mosquitoes *Ae. aegypti* from natural populations of Sullana (Piura) and Laredo (La Libertad) and a reference strain of Rockefeller. The susceptibility of lamdacyhalothrin was determined by the method of the bottle proposed by the CDC, for that it was set up a control group (absolute ethanol) and a problem group (lamdacyhalothrin 10µg/bottle) with four repetitions of 20 mosquitoes each, the esterases were determined by SDS - PAGE and subjected to alpha naphthyl acetate substrates and beta naphthyl acetate. We found a high percentage of mortality of the adult populations of *Ae aegypti* from Laredo district and Sullana when exposed to the insecticide; also were identified 14 esterase bands, eleven of which have affinity for the alpha naphthyl acetate and three by the beta naphthyl acetate, it was also identified one strongly staining esterase (E6). Therefore, it is concluded that female populations of *Ae aegypti* from Laredo and Sullana presented susceptibility to lamdacyhalothrin and present 13 no common bands (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E10, E11, E13, E14) and a common band (E12) regarding to Rockefeller population.

Keywords: *Aedes aegypti*, susceptibility, lamdacyhalothrin, Sullana, Laredo, esterases

INTRODUCCIÓN

Los programas de control de vectores buscan interrumpir el desarrollo de mosquitos antropofílicos, dentro de ellos *Aedes aegypti*, a través de estrategias^{61,2,3,4,5,6}. Una de las acciones prioritarias realizadas por autoridades de salud es el control químico; al ser utilizado en larvas y adultos es un elemento indispensable para los programas de control del dengue. En la selección del producto químico y su concentración adecuada se debe considerar el costo de aplicación del insecticida, su eficacia biológica contra el vector, la facilidad de manipulación y aplicación además de su toxicidad en especies no involucradas⁷. Existen cuatro grupos de insecticidas que constituyen el 90% del mercado en salud pública: los organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides.

Los piretroides interfieren con las funciones del sistema nervioso y actúan sobre el axón en los sistemas central y periférico mediante la interacción con los canales de sodio y su forma de acción pueden ser de cuatro tipos: sobre-excitación nerviosa sin contracciones musculares, daño de los nervios motores, contracciones musculares de larga duración y obstrucción total de los impulsos nerviosos. La muerte puede sobrevenir a causa de la combinación de dos o más de estos mecanismos o de la sucesión de los cuatro³.

El insecticida lambdacialotrina es un piretroide fotoestable que afecta a la fibra nerviosa mediante la unión a una proteína que regula el canal de sodio. Cuando los canales de sodio no pueden cerrarse por acción del insecticida, las células nerviosas producen descargas repetitivas y eventualmente causar temblores seguidamente de parálisis y muerte del insecto. Uno de los principales obstáculos en la aplicación del control químico, lo constituye la resistencia que ha desarrollado este vector a una variedad cada vez más elevada de insecticidas organosintéticos¹³⁻¹⁴. En la última década fueron desarrolladas algunas pruebas bioquímicas que permiten la identificación de las enzimas detoxificadoras¹⁹: la glutatión – S – transferasas (GST), la superfamilia del citocromo P450 monooxigenasas (P450) y las esterasas (EST).

Las esterasas son hidrolasas que tienen la capacidad de romper enlaces éster de compuestos xenobióticos²⁰. Las esterasas son ubicuas e importantes en el metabolismo de diferentes clases de compuestos exógenos y endógenos, puesto que desempeñan un número crucial de funciones en el desarrollo y conducta del insecto: degradación odorante y funciones relacionadas en la digestión, reproducción y síntesis de muchas moléculas como las feromonas, pero la principal función es la de proporcionar mecanismos de protección al convertir sustancias tóxicas en hidrosolubles²⁰.

La importancia de conocer el grado de susceptibilidad del insecticida empleado mediante bioensayo (método CDC) es que se obtiene una respuesta toxicológica directa del *Ae. aegypti* a una dosis del insecticida empleado; además, los datos obtenidos son integrados a una serie de pruebas bioquímicas aplicadas a la misma población de mosquitos. La electroforesis en gel de poliacrilamida permite determinar los patrones de esterasas en las poblaciones en estudio mediante la presencia de bandas de esterasas que fueron nombradas A o B, de acuerdo a la especificidad de la reacción con los sustratos inespecíficos de la enzima α y β naftil acetato⁴⁰.

El presente trabajo se logró comparar la susceptibilidad al lambdacialotrina de las poblaciones naturales de *Ae. aegypti* con el estado actual de las esterasas como mecanismo de resistencia empleando poblaciones naturales procedentes de la Provincia de Laredo (La Libertad) y de la Provincia de Sullana (Piura).

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de insectos.

Se utilizó una población de *Aedes aegypti* recolectado de criaderos naturales en diferentes estadios larvarios y pupas, en el distrito de Laredo de la provincia de Trujillo; Región La Libertad – Perú y del distrito de Sullana de la provincia de Piura; Región Piura - Perú; y una cepa de referencia Rockefeller, suministrada por el programa de entrenamiento y control de enfermedades tropicales (PECET - Colombia) en estadio de huevo.

Insecticida utilizado.

Lambdacialotrina con 97,8% de pureza²³, proporcionados por la Dirección Ejecutiva de Salud Ambiental (DESA), procedente de sus respectivos lotes.

Se estableció un grupo problema (10µg/botella) de los distritos estudiados (Laredo y Sullana) y un grupo testigo (etanol absoluto) para cada uno de ellos. Para la impregnación del insecticida lambdacialotrina y del etanol en las botellas de vidrio se usó el método de impregnación de botellas propuesto por Brogdon y Mac Allister³³.

Los bioensayos se realizaron siguiendo el método de la botella del CDC³³. Cada bioensayo consistió en dos réplicas del tratamiento (A1 y B1) y un testigo (T1) para cada población en estudio; una réplica estuvo representada por una botella donde se colocaron 20 hembras del mosquito G1 con tres días a doce días de vida²¹ para exponerlo a la dosis diagnóstica del insecticida (10 µg) y tiempo diagnóstico que se estableció a partir de la cepa de referencia Rockefeller (35 minutos).

Determinación de alfa y beta esterasas mediante electroforesis.

Para determinar las esterasas inespecíficas presentes en los especímenes de *Ae. aegypti* se utilizaron los métodos propuestos por Rodríguez *et al*³⁷⁻³⁹.

RESULTADOS

En las Fig. 1 y Fig. 2 se detallan el porcentaje de mortalidad de las poblaciones de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad), Sullana (Piura) y la cepa de referencia Rockefeller expuestos durante 60 minutos al piretroide lambdacialotrina fueron similares (Figs. 1 y 2).

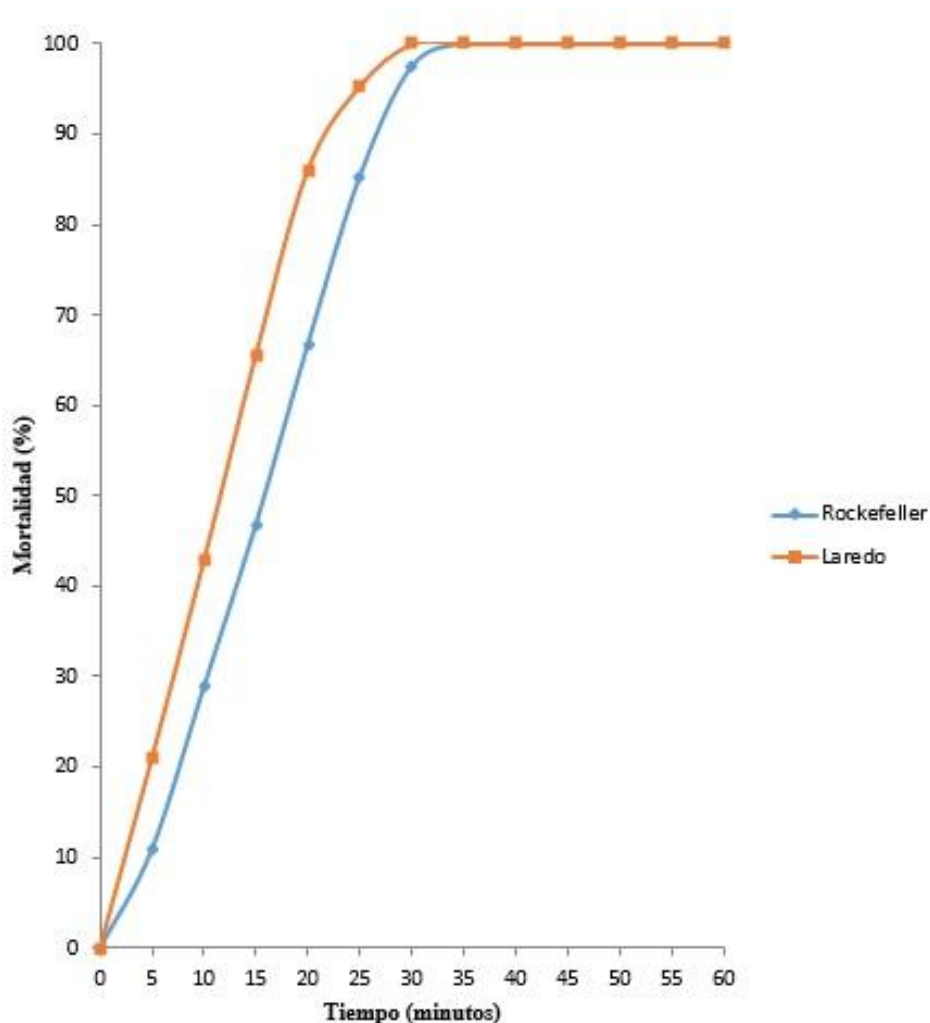


Fig. 1. Porcentaje de mortalidad en relación al tiempo de adultos hembras e *Aedes aegypti* procedentes de los criaderos naturales naturales del distrito de Laredo (Trujillo, Perú) y la cepa de referencia Rockefeller, expuestos al insecticida lambdacialotrina (10g/botella) a través del método de la botella impregnada (CDC)

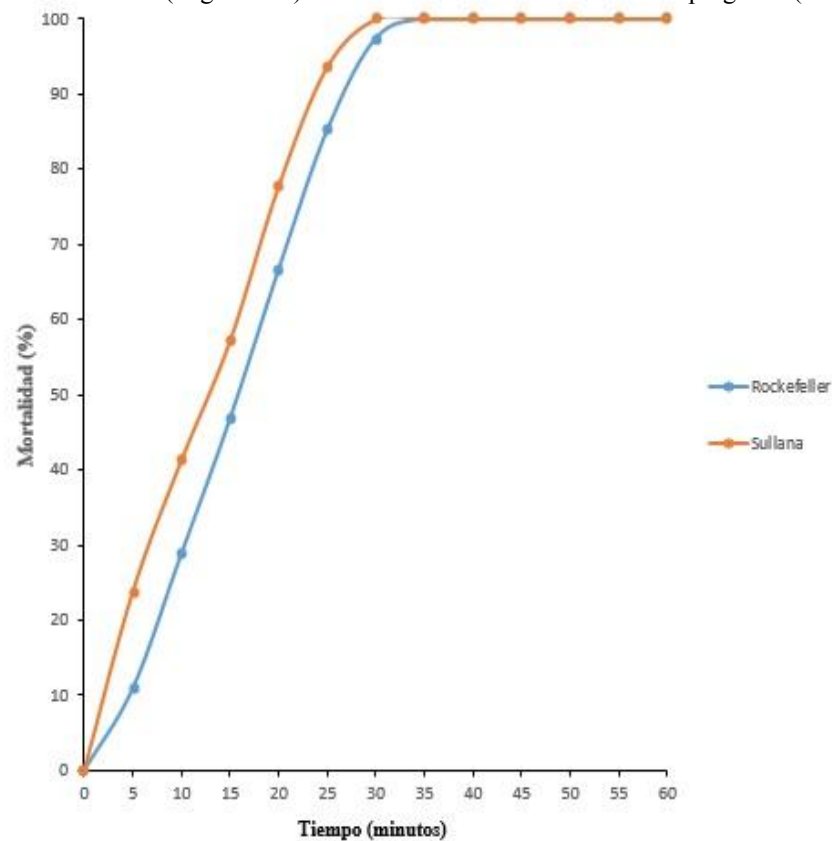


Fig. 2. Porcentaje de mortalidad en relación al tiempo de adultos hembras e *Aedes aegypti* procedentes de los criaderos naturales naturales del distrito de Laredo (Trujillo, Perú) y la cepa de referencia Rockefeller, expuestos al insecticida lambdacialotrina (10ug/botella) a través del método de la botella impregnada (CDC)

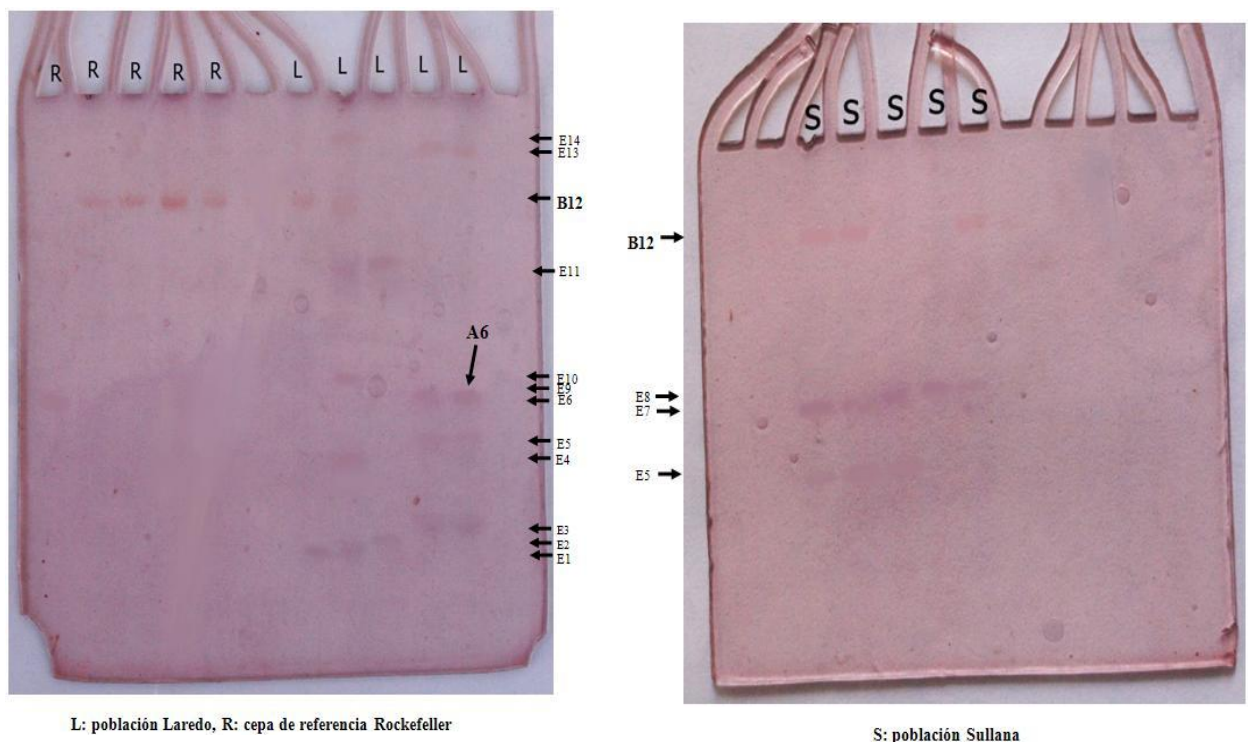


Fig. 3. Patrones de esterases no específicas en SDS-PAGE de adultos hembras de *Aedes aegypti* procedentes de criaderos naturales del distrito de Laredo (Trujillo, Perú), Sullana (Piura) y la cepa de referencia Rockefeller

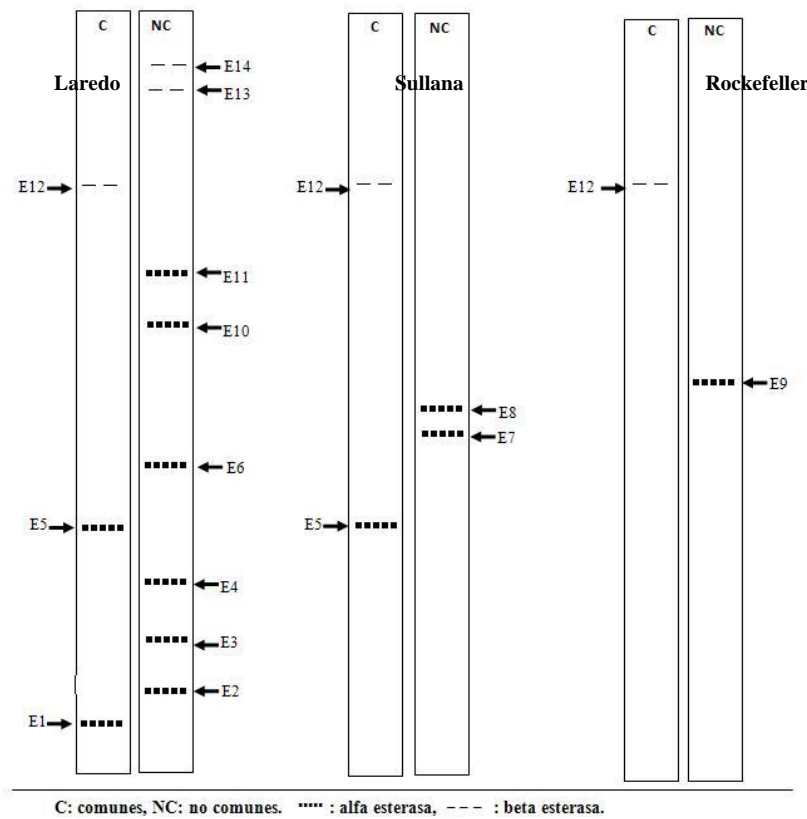


Fig. 4. Diagrama de patrones de esterases no específicas observadas en SDS-PAGE (Fig. 3) de adultos hembras de *Aedes aegypti* procedentes de criaderos naturales del distrito de Laredo (Trujillo, Perú), Sullana (Piura) y la cepa de referencia Rockefeller

Tabla 1: Bandas de esterases no específicas (ENE) observadas en poblaciones a dultas hembras naturales de *Aedes aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y Sullana (Piura) y la cepa de referencia Rockefeller.

Poblaciones	Esterasas		Movilidad relativa (R _m)		Afinidad por el sustrato		Intensidad	
	Comunes	No comunes	Comunes	No comunes	Comunes	No comunes	Comunes	No comunes
Laredo	E5 ^b	E1	0.730	0.952	α-NA	α-NA	+++	+
	E12 ^{b,c}	E2	0.238	0.936	β-NA	α-NA	++	+
		E3		0.888		α-NA		++
		E4		0.777		α-NA		+
		E6		0.634		β-NA		+++
		E10		0.523		α-NA		+
		E11		0.396		α-NA		++
		E13		0.126		β-NA		+
		E14		0.111		β-NA		+
Sullana	E5 ^a	E7	0.730	0.619	α-NA	α-NA	++	++
	E12 ^{a,c}	E8	0.238	0.603	β-NA	α-NA	++	++
Rockefeller [*]	E12 ^{b,c}	E9	0.238	0.587	β-NA	α-NA	+	+

a: Laredo, b: Sullana, c: Rockefeller; *: Cepa de Referencia

DISCUSIÓN

El tiempo en los intervalos de observación nos ofrece un seguimiento más detallado de los porcentajes de mortandad en los ensayos. Brogdon⁴¹ recomienda la lectura de datos cada 15 minutos. Valderrama *et al*²¹ realizó cada 10 minutos la medición de datos. El presente trabajo estandarizó la lectura de datos cada 5 minutos como se detalla en la Fig. 1 y Fig. 2. El rango de edad establecido por la RELCOV (Red Latinoamericana en Control de Vectores) en su protocolo del 2005 al emplear hembras adultas de primera generación es de uno a tres días de edad; sin embargo, para la realización de este trabajo se utilizaron hembras de primera generación no mayores a 12 días y no menores a tres días siguiendo el parámetro realizado por Valderrama²¹.

En el presente trabajo se determinaron el porcentaje de mortalidad en zancudos adultos hembras de *Ae. aegypti* del distrito de Laredo y Sullana con la cepa de referencia Rockefeller al exponerse a lambdacialotrina 10µg siguiendo el método de la botella del CDC³⁶. La alta mortalidad de hembras de *Ae. aegypti* de Laredo y Sullana, como se observa en las Fig 1 y Fig 2 expuestas a este piretroide, puede deberse a que estos xenobióticos actúan uniéndose a una proteína de los canales de sodio en el nervio provocando una lenta reacción sobre el cierre del canal de sodio, por tanto inducen una prolongación de apertura del canal por lo que los iones entran al axón en descargas repetidas causando excitación y eventualmente parálisis, es decir, una continua estimulación nerviosa^{11, 44}. Actualmente casi todos los investigadores que hablan de resistencia, coinciden en aceptar la hipótesis de la resistencia preadaptativa, lo cual significa que los plaguicidas por si mismos no producen resistencia, pues lo que hacen es simplemente seleccionar individuos resistentes ya presentes en la población natural de la plaga⁴⁵, los cuales adquieren tal condición genética, probablemente, debido a los factores ambientales y no por el efecto de los insecticidas. Así los individuos tolerantes confieren resistencia a sus progenitores a través de los genes, por lo que las generaciones subsiguientes del insecto serán resistentes también al insecticida. Con este concepto, se puede tomar la posibilidad que en las poblaciones de *Ae. aegypti* de los distritos de Laredo (La Libertad) y Sullana (Piura) no exista individuos que hayan desarrollado resistencia y que el insecticida esté actuando en el sitio blanco, es decir, que el componente activo de los insecticidas penetre el exoesqueleto, que atraviese los tejidos intermedios, llegando a su diana y ejerciendo su acción sobre éste sin ningún tipo de inconveniente, momento en el cual el insecto evidencia la intoxicación y cae derribado.

Las esterasas son consideradas como agentes indicadores de resistencia cuyos mecanismos de degradar compuestos piretroides es importante en la presentación de resistencia y su evaluación debe ser cuidadosamente analizada. Estas enzimas son herramientas importantes para el análisis de la diferenciación genética y las relaciones evolutivas de los insectos, sobre todo en los estudios bioquímicos y ecológicos. En el presente trabajo, las esterasas han sido identificadas mediante su metabolismo al alfa y beta naftil acetato, las cuales sirven para clasificarlas como alfa esterasas y beta esterasas respectivamente. Se obtuvo la movilidad relativa de cada banda con la finalidad de clasificar las enzimas estudiadas como se aprecia en la Tabla 1. siguiendo la metodología propuesta por Sousa et al⁴². Se identificaron un total de 14 bandas, de las cuales once presentan afinidad por el sustrato alfa naftil acetato y tres por el beta naftil acetato (Tabla 1). La medición de la actividad de las esterasas en las poblaciones naturales de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y de Sullana (Piura) es importante en el seguimiento de los mecanismos de resistencia al insecticida piretroide lambdacialotrina y que, junto con la vigilancia de control, se lograría evitar cambios significativos en la susceptibilidad a este insecticida²⁰.

Las esterasas tienen un diverso rango de sustratos (esteres), las cuales se clasifican de acuerdo a su afinidad con los sustratos (preferencia y especificidad); además las pruebas de

inhibición de la caracterización bioquímica de las esterasas ha sido utilizada para clasificar una variedad de ellas en insectos del género *Aedes*^{20, 46}. La presencia de bandas de esterasas en el gel de poliacrilamida en las poblaciones naturales de especímenes adultos de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y de Sullana (Piura), así como en cepa de referencia Rockefeller susceptible a insecticidas, indicaría que en las bandas no comunes E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E10, E11, E13, E14 (Tabla 1) estarían evidenciando esterasas posiblemente involucradas en funciones de detoxificación de xenobióticos^{40, 43} porque no se encuentran en la cepa susceptible Rockefeller. Las bandas comunes reflejarían la presencia de esterasas que estaría participando en diversas funciones como en el comportamiento reproductivo, feromonas y el metabolismo hormonal, digestión y la neurotransmisión^{40, 43}.

La clasificación de las esterasas realizado en base al valor de movilidad relativa (R_m) permitió determinar a esterasas comunes y no comunes en las dos poblaciones naturales adultas de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y de Sullana (Piura) y una cepa susceptible a insecticidas Rockefeller, observándose una banda fuertemente teñida A6 ($R_m = 0.634$) solo en la población de Laredo, lo que evidenciaría una hiperactividad de esta enzima. Por otro lado, dentro de las esterasas comunes en las tres poblaciones (adultos de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo - La Libertad y de Sullana - Piura así como en cepa de referencia Rockefeller susceptible a insecticidas) se encontró a la esterasa B12 con un R_m de 0.238, la cual también ha sido reportado por Vargas *et al*¹³ como B2 ($R_m = 0.23$) en poblaciones de Sullana (Piura) y por Chávez *et al*¹ en poblaciones del distrito El Porvenir (La Libertad); la presencia de esta esterasa en la población de Rockefeller estaría posiblemente involucrada en diversos procesos biológicos como reguladores de la hormona juvenil, digestión y reproducción⁴⁶; mas no en procesos de resistencia porque es una cepa susceptible a insecticidas; esto explicaría el 100% de mortalidad encontrado en los bioensayos de las poblaciones naturales de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y de Sullana (Piura) (Fig. 1 y Fig. 2)

Cabe indicar que existen diversos trabajos en clasificar a las esterasas debido a su importancia en determinar la variación genética (permite clasificar poblaciones), así como su importancia en la generación de funciones de resistencia a insecticidas. Bisset *et al*²⁷ han clasificado como esterasa A4 en poblaciones adultas de *Ae. aegypti* en Cuba y Venezuela con un valor de R_m de 0.779 con alta frecuencia además de otra esterasa denominada A6 con una movilidad relativa de 0.61 en poblaciones de Venezuela, la cual ha sido correlacionada con la resistencia a organofosforados. También se ha identificado la presencia de la esterasa A4 con R_m de 0.78 solo en poblaciones de Cuba²⁹.

Es importante monitorear permanentemente el estado de susceptibilidad a este piretroide en las poblaciones debido a que el uso excesivo del insecticida puede ocasionar resistencia, aumentando las poblaciones que presentan un nivel mayor de estas enzimas en un menor tiempo que las que no poseen esta condición, ya que la presión ejercida por el insecticida puede seleccionar a individuos que presentan enzimas. La resistencia metabólica debido a esterasas es uno de los mayores problemas en poblaciones de vectores porque su presencia ha sido correlacionada con la resistencia a dos principales clases de insecticidas como organofosforados y piretroides²⁰.

CONCLUSIONES

- Las poblaciones naturales de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y de Sullana (Piura) son susceptibles a lambdacialotrina.
- Las poblaciones de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad), Sullana (Piura) y la cepa de referencia Rockefeller presentaron 13 bandas no comunes (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E13 y E14) y una banda común (E12).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salvatella R. *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) Notificación de su presencia en Uruguay. Rev Med Uruguay. 1997; 13: 118 – 121.
2. Basso C. Abordaje ecosistémico para prevenir y controlar al vector del dengue en Uruguay. Basso C, editor. Montevideo: Universidad de la República; 2010.
3. Bobadilla MC. Perfil de resistencia y mutación “kdr” asociada a insecticidas piretroides en *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) de Veracruz, México. (Tesis Doctoral). Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. 2010: 14 – 23.
4. Chávez J, Vargas J, Vargas F. Resistencia a deltametrina en dos poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) del Perú. Rev Perú Biol. 2005. 12: 161 – 164.
5. Omar CR, Nélida LG. Variabilidad genética de *Aedes aegypti* en algunas áreas del Perú usando Single Stranded Conformational Polymorphism (SSCP). Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2004. 21 (3): 157 – 166.
6. TDR/ World Health Organization. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva. Suiza. 2009.
7. World Health Organization. Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health importance. WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.1. Geneva: World Health Organization; 2006.
8. Perez EE, Molina D. Resistencia focal a insecticidas organosintéticos en *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) de diferentes municipios del estado Aragua, Venezuela. Bol Mal Salud Amb. 2009; 44 (1): 143 – 150.
9. Fernicola N. Toxicología de los insecticidas organoclorados. Bol of Sanit Panam. 1985. 98: 10 – 19.
10. Ramirez JA, Lacasaña M. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medios de la exposición. Arch Prev. 2001; 4(2) : 67 – 75.
11. Anaya Y. Evaluación de la susceptibilidad a insecticidas en *Aedes aegypti* capturados en el municipio de Sincelajo, Departamento de Sucre, Colombia. Tesis para optar el título de Biólogo con énfasis en Biotecnología. Universidad de Sucre, Facultad de Educación y Ciencia. 2008.
12. Rodríguez M. Estudio de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). (Tesis Doctoral). La Habana: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri. Cuba. 2008: 21-36.
13. Vargas F, Córdova O, Alvarado A. Determinación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus* y *Lutzomyia peruensis* procedentes del norte peruano. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2006; 23 (4): 259-263.
14. World Health Organization. Resistance of Vectors and Reservoirs of disease to pesticides. Geneva: World Health Organ Tech Rep Ser 737; 1986.
15. World Health Organization. Seventh Report of the WHO Expert committee on insecticides. Geneva: World Health Organ Tech Rep Ser 125; 1957.
16. Bisset J. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. Rev Cub Med Trop. 2002; 54 (3): 202-219.
17. Hemingway J, Ranson H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. Annu Rev Entomol. 2000; 45: 371-391.
18. Molina de Fernández D, Figueroa LE, Pérez E. Resistencia múltiple a insecticidas en *Anopheles marajoara* Galvao & Damasceno, 1942 en zonas agrícolas. Salud & Desarrollo Social. 2007; 3:19-29.
19. Brogdon WG, Beach RF, Stewart JM, Castanaza L. Microplate assay analysis of the distribution of organophosphate and carbamate resistance in Guatemalan *Anopheles albimanus*. Bull WHO. 1988; 66(3): 339 – 346.
20. Montella RI, Schama R, Valle D. The classification of esterases: an important gene family involved in insecticide resistance – A Review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012. 107(4): 437 – 449.
21. Valderrama EI, González R, Jaramillo GI. Evaluación de la susceptibilidad de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) a un insecticida organofosforado y un piretroide en cuatro poblaciones del valle del Cauca, mediante dos tipos de bioensayos. Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle. 2008; 9(2): 1 – 11.
22. Rodríguez DC, Ocampo NJ, González IF. Selección artificial de resistencia a lambdacialotrina en *Aedes aegypti* y resistencia cruzada a otros insecticidas. Revista Colombiana de Entomología. 2012; 38: 100 – 107.
23. Bisset JA, Rodríguez MM, San Martín JL, Romero JE y Montoya R. Evaluación de la resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. Rev Panam Salud Pública. 2009. 26 (3): 229 – 234.

24. Álvarez L, Castillo C, Oviedo M, Briceño F. Diferencia en la susceptibilidad a la deltametrina en poblaciones de *Aedes aegypti* de Trujillo, Venezuela. Boletín de Malariología y Salud Ambiental. 2008; 48 (2): 169 – 175.
25. Bisset J, Rodríguez M, Cáceres L. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. Rev Cubana Med Trop. 2003; 55 (3): 191-195.
26. Bisset JA, Magdalena Rodríguez M, Fernández D, Palomino M. Resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de 2 provincias del Perú. Rev Cubana Med Trop. 2007; 59 (3): 202 – 208.
27. Bisset JA, Rodríguez MM, Molina D, Díaz C, Soca LA. Esterasas elevadas como mecanismos de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. Rev Cubana Med Trop. 2001; 53: 37 – 43.
28. Severini C, Romi R, Marinucci M, Guillemaud T and Raymond M. Esterases A5 -B5 in organophosphate-resistant *Culex pipiens* from Italy. Med Vet Entomol. 1997; 11: 123 – 126.
29. Bisset JA, Rodríguez M, Armas Y. Comparación de 2 poblaciones de mosquitos de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba con diferentes conducta de reposo. Rev Cubana Med Trop. 2005; 57(2): 143 – 150.
30. Bisset JA, Rodríguez MM, Díaz C y Soca LA. Evolución de la resistencia a insecticidas en *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) en una área de La Habana. Rev Cubana Med Trop. 2000; 52(3): 180 – 185.
31. Chavéz JC, Roldán J, Vargas F. Niveles de resistencia a dos insecticidas en poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del Perú. Rev Colomb Entomol. 2005; 31: 75 – 78.
32. Montada D, Castex M, Suarez S, Figueredo D, Leyva M. Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. Rev Cub Med Trop. 2005; 57(2):137-42.
33. Brogdon W, McAllister J. Simplification of adult mosquito bioassays through use of time – mortality determinations in glass bottles. J Am Mosq Control Assoc. 1998; 14(2): 159 – 164.
34. Zamora E, Balta R, Palomino M, Brogdon W, Devine G. Adaptation an evaluation of the bottle assay for monitoring insecticide resistance in disease vector mosquitoes in the Peruvian Amazon. Malar. 2009; 8:208.
35. Yean L, Zairi J. Effects of sublethal dose of *Bacillus thuringiensis* H – 14 exposure on *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). PerniagaanPh'ng'@ P& Y Design Network, Malaysia. 2005; 1: 295 – 300.
36. Reyes F, De la Garza H y Flores A. Efecto de concentraciones subletales de Abate sobre algunos parámetros biológicos de *Aedes aegypti*. Salud Pública de Mex. 1992; 34: 406 – 412.
37. Rodríguez M, Bisset J, Molina D, Díaz C, Sosa L. Adaptación de los métodos en placa de microtitulación para la cuantificación de la actividad de esterases y glutatión – s – transferasa en *Aedes aegypti*. Rev Cubana Med Trop. 2001; 53(1): 32 – 36.
38. Rodríguez M, Bisset J, Molina D, Díaz C, Sosa L. Resistencia a piretroides en *Aedes aegypti* de Cuba inducido por la selección con el insecticida organofosforado Malation. Rev Cubana Trop. 2003; 55(2): 105 – 111.
39. Rodríguez M, Bisset J, Hernández H, Ricardo Y, French L, Pérez O, *et al.* Caracterización parcial de la actividad de esterases en una cepa de *Aedes aegypti* resistente a temefos. Rev Cubana Med Trop. 2012; 64(3): 256 – 267.
40. Gamarra M. Niveles de resistencia al Temefos y Lambdacialotrina en poblaciones naturales de *Aedes aegypti* procedente de los distritos de La Esperanza, Florencia de Mora y El Porvenir (Trujillo; La Libertad – Perú). Tesis para optar el título de Biólogo – Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Biológicas. 2013.
41. Brogdon WG. Chapter 4. 3. 3. CDC Bottle Bioassays. En: Methods in *Anopheles* Research. (Staff MR4, eds). CDC, Atlanta USA. 2007.
42. Sousa – Polezzi C, Melara de Campo H. Effect of phenobarbital on inducing insecticide tolerance and esterase changes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Genet Mol Biol. 2004; 27(2): 275 – 283.
43. Santocolma L, Chaves B, Brochero H. Susceptibilidad de *Aedes aegypti* a DDT, deltametrina y lambdacialotrina en Colombia. Rev Panam Pública. 2010; 27(1): 66 – 73.
44. Miller AT, Adams EM. Mode of action of pyrethroids. In: Coats JR, editor. Insecticide mode of action. New York: Academic Press; 1982.
45. Cremlin R. Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. México DF: Limusa. 1982.
46. Lima – Catelani AR, Ceron CR, Bicudo HE. Variation of genetic expression during development, revealed by esterase patterns in *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). Biochem Genet. 2004. 42: 69 – 34.